

## mRNA ワクチンのカギを“片手”で握る脂質を解明

～立体異性体の制御により、安全性と効果を両立～

### ポイント

- ・ ALC-0315 の立体異性体を単離・合成に成功。
- ・ 異性体ごとの mRNA 送達効率と細胞毒性を比較・解明。
- ・ より安全で高性能な核酸医薬品・ワクチンの実用化に期待。

### 概要

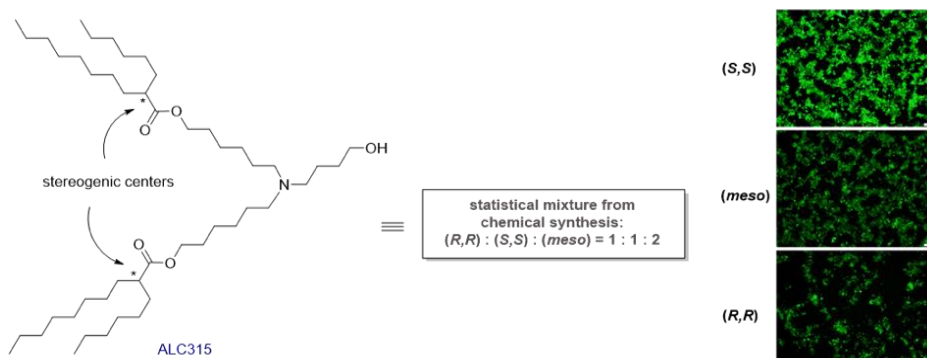
北海道大学総合イノベーション創発機構化学反応創成研究拠点 (WPI-ICReDD) 特任教授及びマックス・プランク石炭研究所教授のリスト・ベンジャミン氏、WPI-ICReDD の辻 信弥特任准教授、WPI-ICReDD 及び同大学大学院医学研究院の田中伸哉教授、津田真寿美准教授らの研究グループは、mRNA ワクチンなどに用いられる脂質ナノ粒子 (LNP) <sup>\*1</sup> の一つの「ALC-0315」について、立体異性体<sup>\*2</sup> ごとの生物学的性質の違いを世界で初めて明らかにしました。

LNP は、核酸医薬品の生体内・細胞内輸送に不可欠で、COVID-19 パンデミックでは、mRNA ワクチンの迅速な実用化を可能にしました。LNP の中でも、「イオン化脂質」は細胞膜との相互作用やエンドソーム脱出に極めて重要で、その代表である ALC-0315 は、ファイザー・ビオンテック製 COVID-19 ワクチン (商品名: Comirnaty) などで使用され、世界で 10 億回以上投与された実績を持ちます。しかし、従来使われてきた ALC-0315 は、3 種類の立体異性体 ((*R,R*)-体、(*S,S*)-体、メソ体) を含む混合物で、各異性体が持つ化学的・生物学的特性はこれまで明らかにされていませんでした。

本研究では、不斉合成及びキラル分取技術を駆使することで、ALC-0315 の三つの異性体をそれぞれ極めて高い純度で取得することに成功しました。得られた異性体を用いて mRNA を搭載した LNP を構築し、ヒト細胞への送達効率及び細胞毒性を評価したところ、いずれも mRNA の発現効率は高かった一方で、細胞毒性には明確な差があることが判明しました。特に、特定の異性体を用いた LNP では、細胞生存率が大きく向上し、従来の混合物型に比べて有意に安全性が高いことが示されました。

本研究成果は、これまで LNP 設計においてほとんど考慮されてこなかった、いわば見過ごされていた「立体化学 (分子の 3 次元的な形状) (脂質の手) が、送達効率や細胞毒性に大きく影響することを初めて実証した点で画期的です。また、構成脂質の立体化学を最適化することで、mRNA 医薬やワクチンの安全性・有効性を一層高めるという新たな設計指針を提示するものです。

なお、本研究成果は、2025 年 7 月 31 日 (木) 公開のアメリカ化学会誌にオンライン掲載されました。



代表的なイオン化脂質「ALC-0315」の構造とその生物学的影響

## 【背景】

mRNA ワクチンや核酸医薬は、近年急速に注目を集めている次世代の医療技術であり、COVID-19 パンデミックを契機にその有効性と即応性が世界的に認識されました。これらの医薬を体内に届けるための「脂質ナノ粒子 (LNP)」は、治療効果を大きく左右する重要な技術基盤です。LNP は、mRNA や siRNA などの不安定な核酸を保護しつつ、細胞内へと効率よく届ける機能を持ちます。その構成要素の中でも「イオン化脂質」は、細胞膜との融合やエンドソーム脱出といったプロセスに関与し、送達効率や安全性に大きく寄与しています。これまでに世界中で接種された mRNA ワクチンにも、ALC-0315 と呼ばれるイオン化脂質が用いられており、その有効性と安全性は高く評価されています。

ところで、多くの化学分子には「鏡像異性体」、すなわち右手と左手のように、互いに鏡に映した関係であり、構造は似ているが性質が異なる「不斉」な分子が存在します。ALC-0315 も分子内に二つの不斉点を持ち、 $(R,R)$ -体、 $(S,S)$ -体、メソ体の三つの立体異性体が存在するにもかかわらず、これまでそれらを区別せず混合物として使用してきました (図 1)。生体は分子の立体構造を高精度に識別できるため、異性体ごとに異なる生物学的応答や毒性が現れる可能性があります。各異性体の化学的・生物学的特性や LNP 機能への影響はこれまで十分に検討されていませんでした。本研究は、こうした未解明の課題に着目し、LNP 技術の根幹に関わる脂質の立体構造について系統的に評価したものです。

## 【研究手法】

本研究では、ALC-0315 に存在する 3 種類の立体異性体 ( $(R,R)$ -体、 $(S,S)$ -体、メソ体) をそれぞれ単離・合成し、mRNA 送達性能及び細胞毒性への影響を比較しました。

まず、ALC-0315 の構成要素である  $\alpha$  位で分岐した脂肪酸について、マイヤース不斉アルキル化反応<sup>3</sup>を用いた合成を行いました。この手法では、光学活性なアミノアルコールを不斉補助基として導入し、LDA を用いたエノラート生成と立体選択的アルキル化を経て、高い光学純度で脂肪酸前駆体を得ました。また、同様の脂肪酸は、キラルカラムによる光学分割<sup>4</sup>でも取得可能であり、複数の手法で安定して異性体を得られることを確認しました。

続いて、得られた不斉脂肪酸を用いて、還元的アミノ化により構築したジオール中間体と二つのエステル化反応を行い、目的とする 3 種類の立体異性体型 ALC-0315 を合成しました。メソ体の合成には、 $(R)$ -及び $(S)$ -脂肪酸を段階的に導入する二段階エステル化反応を用いました。これらの合成脂質を用いて、Nano-Assembler Ignite System により緑色蛍光タンパク質 (GFP) の mRNA を含有した LNP を合成しました。得られた GFP-LNP をヒト胎児腎細胞 (HEK293T 細胞) にトランスフェクションし、GFP 遺伝子の細胞内送達とタンパク質発現効率を FACS、蛍光顕微鏡観察、ウェスタンブロットティング法により検討しました。

細胞毒性については、Propidium Iodide の細胞内取り込みを FACS により測定しました。LNP の濃度依存的な細胞毒性については、HEK293T 細胞に加えて、12 種類のヒトがん細胞株を用いて CCK-8 アッセイキットにより測定し、さらにヒト T 細胞リンパ腫細胞 (Jurkat 細胞) での炎症関連遺伝子の発現をリアルタイム PCR 法により解析しました。

## 【研究成果】

HEK293T 細胞への GFP 遺伝子の送達効率と発現効率は、3 種類の立体異性体 ((*R,R*)-体、(*S,S*)-体、メソ体) によって大きな変化を認めませんでした。一方、細胞毒性については、0.01-0.05 mg/mL の低濃度の LNP 存在下では、(*R,R*)-体のみで細胞生存率の低下が認められましたが、(*S,S*)-体とメソ体では影響しませんでした。0.100 mg/mL の高濃度の LNP では、(*S,S*)-体、メソ体、(*R,R*)-体の順に細胞毒性が増加し、(*R,R*)-体をトランスフェクションした細胞の生存率は約 60%まで低下しました (図 2)。

さらに、12 種類のヒトがん細胞を用いて 3 種類の立体異性体の LNP による細胞毒性を検討したところ、細胞株の種類によって異なる細胞毒性が認められました。0.05 mg/mL の LNP を 48 時間処理した膠芽腫細胞株 KMG4 においては、(*S,S*)-体はほとんど細胞毒性を示しませんでした。メソ体は 97.7%、(*R,R*)-体は 84.4%まで細胞毒性が低下しました。より高濃度 (0.100 mg/mL)、長時間 (72 時間) の LNP 処理において、(*R,R*)-体の細胞毒性はさらに亢進しました。その他、A549 (肺がん)、HCA7 (大腸がん)、Fuji (滑膜肉腫)、U87 (膠芽腫)、J82 (膀胱がん) については、KMG4 と同様の傾向が認められましたが、SYO-1 (滑膜肉腫)、HeLa (子宮頸がん)、HepG2 (肝がん)、Jurkat (T 細胞リンパ腫) においては、(*S,S*)-体とメソ体においても比較的高い細胞毒性が検出されました。

細胞毒性の原因を調べるため、Jurkat 細胞に 3 種類の立体異性体 ((*R,R*)-体、(*S,S*)-体、メソ体) の LNP を処理し、4 時間及び 22 時間後に炎症関連遺伝子 (*IL-6*、*TNF- $\alpha$* 、*IFN- $\gamma$* -R1) の発現量を測定したところ、いずれも(*S,S*)-体、メソ体、(*R,R*)-体の順に発現量が増加しました (図 3)。

## 【今後への期待】

本研究により、脂質ナノ粒子 (LNP) の構成要素である ALC-0315 において、立体異性体ごとの生物学的性質の違いが明確に示されました。特に(*S,S*)-異性体は、従来の混合物よりも高い mRNA 送達効率と低い細胞毒性を示し、より安全で効率的な核酸医薬の実現に向けた有力な構成脂質となることが期待されます。この成果は、mRNA ワクチンや遺伝子治療薬の安全性と効果を両立させるという課題に対して、具体的な解決策を提示するものです。

近年、LNP は感染症、がん、希少疾患など幅広い疾患領域に応用が拡大しており、安全性の向上は臨床現場において極めて重要な要件となっています。本研究の知見をもとに、LNP 製剤における脂質設計の基準が見直され、将来的には製剤の標準化や規制指針の更新にもつながる可能性があります。また、副作用の軽減や投与量の低減が見込まれることで、患者負担の少ない医療の実現にも貢献できると考えられます。さらに、立体化学に基づく設計指針は、他のイオン化脂質や LNP 構成成分にも応用可能であり、核酸医薬全体のプラットフォーム技術としての発展も期待されます。本研究は、医薬品の開発現場における新たな設計原理の確立に寄与するとともに、より安全で信頼性の高い核酸医療の普及に向けた基盤を提供するものです。

## 【謝辞】

本研究は、世界トップレベル研究拠点プログラム・化学反応創成研究拠点 (WPI-ICReDD)、ドイツ・マックス・プランク協会、ドイツ研究振興協会 (DFG、ドイツの卓越戦略プログラム「RESOLV-EXC 2033」、ID: 390677874)、及び欧州研究会議 (ERC) の研究助成 (European Union's Horizon 2020 research and innovation program “C-H Acids for Organic Synthesis, CHAOS” (Advanced Grant No. 694228) 及び Horizon 2022 research and innovation program “Early Stage Organocatalysis, ESO” (Advanced Grant No. 101055472))、日本学術振興会 科学研究費助成事業 (JSPS KAKENHI: JP23K06584、JP22H04989、JP24H00037) 及び日本医療研究開発機構 (AMED: JP24ek0410124、JP24gm1810006、JP223fa627002) を受けて実施されました。

## 論文情報

論文名 The Overlooked Stereoisomers of the Ionizable Lipid ALC315 (イオン化脂質 ALC0315 の立体異性体の合成と生物学的影響の評価)

著者名 Chandra Kanta De<sup>#,1</sup>、津田真寿美<sup>#,2,3</sup>、Chendan Zhu<sup>#,1</sup>、Stephanie Dehn<sup>1</sup>、Heike Hinrichs<sup>1</sup>、辻 信弥<sup>3</sup>、Hui Jin<sup>4</sup>、荒瀬 尚<sup>4,5,6,7</sup>、田中伸哉<sup>\*,2,3</sup>、Benjamin List<sup>\*,1,3</sup> (1 マックス・プランク石炭研究所、2 北海道大学大学院医学研究院腫瘍病理学教室、3 北海道大学総合イノベーション創発機構化学反応創成研究拠点 (WPI-ICReDD)、4 大阪大学微生物病研究所免疫化学分野、5 大阪大学免疫学フロンティア研究センター (WPI-IFReC) 免疫化学研究室、6 大阪大学ワクチン開発拠点先端モダリティ・ドラッグデリバリーシステム研究センター、7 大阪大学感染症総合教育研究拠点、<sup>#</sup>Equal contribution、<sup>\*</sup>Corresponding author)

雑誌名 アメリカ化学会誌 (化学の専門誌)

DOI 10.1021/jacs.5c08345

公表日 2025年7月31日 (木) (オンライン公開)

## お問い合わせ先

北海道大学大学院医学研究院腫瘍病理学教室 教授

北海道大学総合イノベーション創発機構化学反応創成研究拠点 (WPI-ICReDD) 教授

田中伸哉 (たなかしんや)

T E L 011-706-5052 F A X 011-706-5902 メール tanaka@med.hokudai.ac.jp

U R L <http://patho2.med.hokudai.ac.jp>

<https://www.icredd.hokudai.ac.jp/ja>

北海道大学総合イノベーション創発機構化学反応創成研究拠点 (WPI-ICReDD) 特任准教授

辻 信弥 (つじのぶや)

T E L 011-706-9676 F A X 011-706-9678 メール tsuji@icredd.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.icredd.hokudai.ac.jp/ja>

## 配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

## 【参考図】

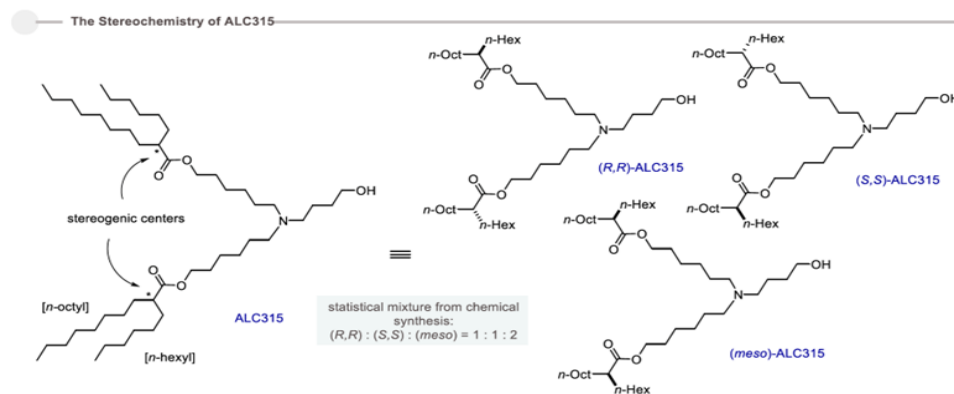


図 1. イオン化脂質 ALC-0315 に含まれる三つの立体異性体

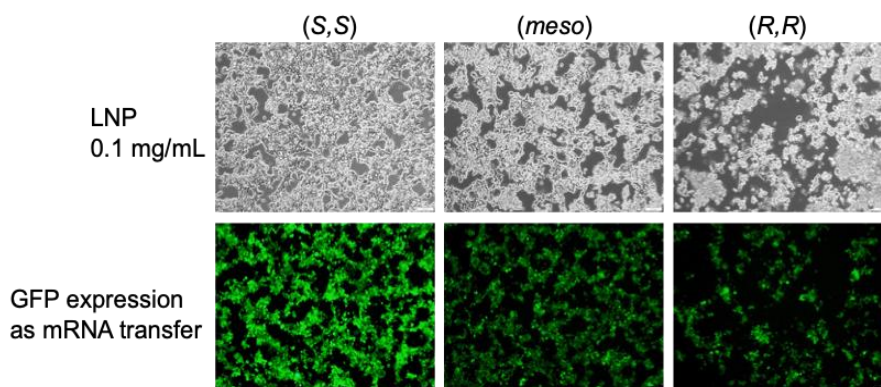


図 2. ヒト胎児腎細胞（HEK293T 細胞）に 0.100 mg/mL の *GFP*mRNA-LNP ((*R,R*)-体、(*S,S*)-体、メソ体) をトランスフェクションした際の細胞生存率（上棒グラフ）と GFP タンパク質の発現効率（下写真。GFP 発現細胞が緑色に光っている）

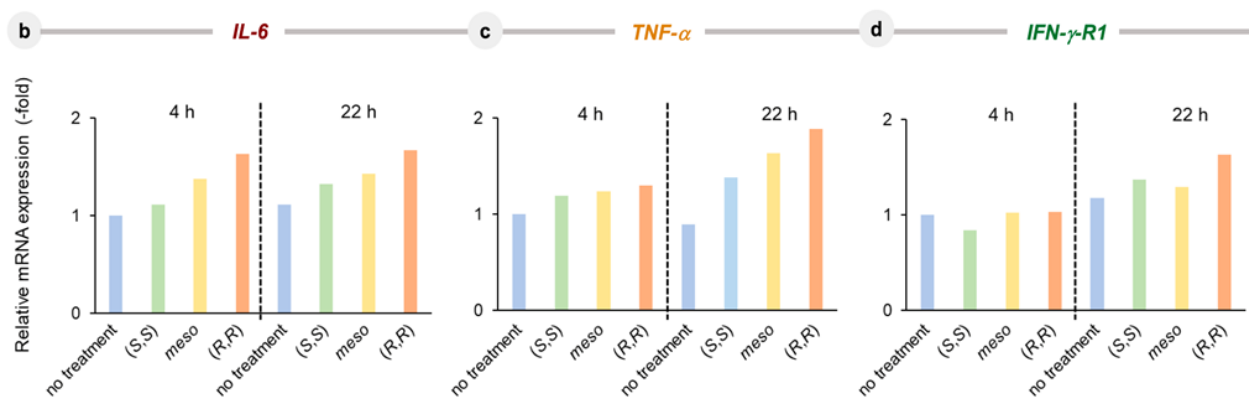


図 3. ヒト T 細胞リンパ腫（Jurkat 細胞）に 3 種類の立体異性体 ((*R,R*)-体、(*S,S*)-体、メソ体) LNP を処理し、4 時間及び 22 時間後の炎症関連遺伝子 (*IL-6*、*TNF-alpha*、*IFN-gamma-R1*) の発現量

### 【用語解説】

- \*1 脂質ナノ粒子（LNP） … Lipid Nano Particle の略。脂質成分で構成される粒子径 100 nm 程度のナノ粒子。簡便に大量生産可能であり、内包した核酸医薬や mRNA の分解を抑制しつつ目的細胞に送達可能であることから、核酸医薬の送達担体や mRNA ワクチンに使用されている。
- \*2 立体異性体 … 同一の構造式で表すことができる分子のうち、立体的に重ね合わせることでできない分子のこと。ジアステレオマー、エナンチオマーなどが挙げられる。
- \*3 マイヤース不斉アルキル化反応 … 安価なプソイドエフェドリンを不斉補助機として用いることで、立体選択的にアルキル化する手法のこと。簡便に  $\alpha$ -置換カルボン酸誘導体を得られる。
- \*4 光学分割 … 立体異性体の混合物を分割すること。今回はキラルな固定相を用いた HPLC によって立体異性体を分割しており、ほぼ純粋な異性体を得ることに成功している。

## 【WPI-ICReDD について】

ICReDD (Institute for Chemical Reaction Design and Discovery、アイクレッド) は、文部科学省国際研究拠点形成促進事業費補助金「世界トップレベル研究拠点プログラム(WPI)」に採択され、2018年10月に本学に設置されました。WPIの目的は、高度に国際化された研究環境と世界トップレベルの研究水準の研究を行う「目に見える研究拠点」の形成であり、ICReDDは国内にある18の研究拠点の一つです。

ICReDDでは、拠点長の下、計算科学、情報科学、実験科学の三つの学問分野を融合させることにより、人類が未来を生き抜く上で必要不可欠な「化学反応」を合理的に設計し制御を行います。さらに化学反応の合理的かつ効率的な開発を可能とする学問、「化学反応創成学」という新たな学問分野を確立し、新しい化学反応や材料の創出を目指しています。

